

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-002959

(43)Date of publication of application : 07.01.1997

(51)Int.Cl.

A61K 35/74
A61K 35/74
// C12N 1/20
(C12N 1/20
C12R 1:225)
(C12N 1/20
C12R 1:23)
(C12N 1/20
C12R 1:24)
(C12N 1/20
C12R 1:245)
(C12N 1/20
C12R 1:25)
(C12N 1/20
C12R 1:46)
(C12N 1/20
C12R 1:01)

(21)Application number : 07-172949

(71)Applicant : YAKULT HONSHA CO LTD

(22)Date of filing : 16.06.1995

(72)Inventor : SHIDA HIROSHI
MAKINO KUMIKO
WATANABE KOICHI
TAKAMIZAWA KOTARO

(54) IMMUNO-GLOBULIN E ANTIBODY PRODUCTION SUPPRESSANT AND ANTIALLERGIC AGENT

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain an IgE antibody production suppressant containing a bacterial cell of lactobacillus as an active ingredient, not only safe even if continuously ingested for a long period, but also making useful action such as intestine- control action of lactobacillus to integrally act and effective in preventing and treating various kinds of allergic diseases.

CONSTITUTION: This IgE antibody production suppressant contains bacterial cell of lactobacillus as an active ingredient. Lactobacillus acidophilus (ATCC 4356), Lactobacillus brevis (ATCC 14869), Lactobacillus buchneri (ATCC 4005), Lactobacillus casei (ATCC 393), Lactobacillus delbrueckii (ATCC 11842), Lactobacillus fermentum (ATCC 14931), etc., is preferably used as the lactobacillus.

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平 9 - 2 9 5 9

(43)公開日 平成 9 年 (1 9 9 7) 1 月 7 日

(51)Int.Cl.	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A61K 35/74	ABB		A61K 35/74	ABB A
	ABF			ABF
// C12N 1/20		7804-4B	C12N 1/20	E
(C12N 1/20				
C12R 1:225)				

審査請求 未請求 請求項の数 3 F D (全 4 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願平 7 - 1 7 2 9 4 9

(22)出願日 平成 7 年 (1 9 9 5) 6 月 1 6 日

(71)出願人 0 0 0 0 0 6 8 8 4

株式会社ヤクルト本社

東京都港区東新橋 1 丁目 1 番 1 9 号

(72)発明者 志田 寛

東京都港区東新橋 1 - 1 - 1 9 株式会社

ヤクルト本社内

(72)発明者 牧野 久美子

東京都港区東新橋 1 - 1 - 1 9 株式会社

ヤクルト本社内

(72)発明者 渡辺 幸一

東京都港区東新橋 1 - 1 - 1 9 株式会社

ヤクルト本社内

(74)代理人 弁理士 板井 一雄

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 I g E 抗体産生抑制剤および抗アレルギー剤

(57)【要約】

【目的】 I 型アレルギー反応の第一段階で重要な役割

をする I g E 抗体の産生を抑制する新規な手段を提供

し、I 型アレルギーの治療と予防を容易にする。

【構成】 乳酸菌の菌体を有効成分とする I g E 抗体産

生抑制剤および抗アレルギー剤。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 乳酸菌の菌体を有効成分とする I g E 抗体産生抑制剤。

【請求項 2】 乳酸菌の菌体を有効成分とする抗アレルギー剤。

【請求項 3】 乳酸菌がラクトバチルス・アシドフィルス、ラクトバチルス・ブレビス、ラクトバチルス・ブフネリ、ラクトバチルス・カゼイ、ラクトバチルス・デルブリュッキイ、ラクトバチルス・ファーメンタム、ラクトバチルス・ヘルベティカス、ラクトバチルス・ケフィア、ラクトバチルス・バラカゼイ、ラクトバチルス・プラントラム、ラクトバチルス・ラムノーサス、ラクトバチルス・サリバリウス、ストレプトコッカス・サーモフィルス、ラクトコッカス・ラクティス、ラクトコッカス・プラントラム、ラクトコッカス・ラフィノラクティス、ロイコノストック・ラクティス、ロイコノストック・メセンテロイデス、エンテロコッカス・フェーカリスまたはエンテロコッカス・フェシウムである請求項 1 記載の I g E 抗体産生抑制剤。

【発明の詳細な説明】

【00001】

【産業上の利用分野】 本発明は、アレルギーの予防および治療に有効な、I g E 抗体産生抑制剤に関するものである。

【00002】

【従来の技術】 アレルギー疾患はその作用機序により I 型から IV 型までに分類されているが、現在わが国で多くの人を悩ませている花粉症、アトピー性皮膚炎、気管支喘息、アレルギー性鼻炎、アレルギー性結膜炎、食物アレルギー等のアレルギー疾患は、I g E 抗体依存性の I 型アレルギーである。

【00003】 I 型アレルギーの発症過程ではまず組織内のマスト細胞や血中の好塩基球表面の Fcε レセプターにアレルギー特異的 I g E 抗体が結合し、次いで、アレルギーが I g E 抗体に結合し、I g E 抗体間に架橋が形成される。この架橋によりマスト細胞や好塩基球が刺激されてヒスタミン、セロトニン、ロイコトリエン、ヘパリン等の化学伝達物質を遊離し、それらの作用によって様々なアレルギー症状が現れる。

【00004】 従来、I 型アレルギーに対しては上記化学伝達物質の放出抑制作用を有する抗アレルギー剤、放出された化学伝達物質の作用を抑制するのに有効な抗ヒスタミン剤、抗炎症作用を有するステロイド剤等を用いた対症療法が行われているが、これら従来の薬剤は多かれ少なかれ副作用を伴うので使用法が難しいという問題点があった。

【00005】 I 型アレルギーの発症の第一段階で重要な役割を演じる I g E 抗体の産生を抑制することができれば根本的な予防と治療につながるものと期待されるが、I g E 抗体の産生抑制に有効な手段はほとんど開発されてい

ない。

【00006】

【発明が解決しようとする課題】 そこで本発明は、I 型アレルギー反応の第一段階で重要な役割をする I g E 抗体の産生を抑制する新規な手段を提供し、I 型アレルギーの治療と予防を容易にすることを目的とする。

【00007】

【課題を解決するための手段】 上記目的を達成することに成功した本発明は、乳酸菌の菌体が I g E 抗体の産生を抑制することを本発明者らが初めて見いだしたことに基づき、乳酸菌の菌体を有効成分とする I g E 抗体産生抑制剤を提供するものである。

【00008】 本発明はまた、I g E 抗体の産生を抑制することにより I 型アレルギーを予防し更には治療を可能にする、乳酸菌菌体を有効成分とする新規な抗アレルギー剤を提供するものである。

【00009】 乳酸菌の I g E 抗体産生抑制作用は、食物アレルギーの代表であるオボアルブミン抗原をあらかじめ免疫したマウスの脾臓細胞による抗体産生試験により確認された（後記実施例参照）。

【00010】 I g E 抗体産生抑制作用は、菌種および菌株による多少の優劣はあっても、本発明者らが調べた範囲ですべての乳酸桿菌および乳酸球菌の菌体に認められた。したがって、本発明のための乳酸菌菌体はまったく限定されず、ラクトバチルス属、ストレプトコッカス属、ラクトコッカス属、ロイコノストック属、エンテロコッカス属等の乳酸菌がいずれも使用することができる。

【00011】 I g E 抗体産生抑制作用が特に顕著で本発明のための乳酸菌として好ましいものの具体例を示すと、ラクトバチルス・アシドフィルス、ラクトバチルス・ブレビス、ラクトバチルス・ブフネリ、ラクトバチルス・カゼイ、ラクトバチルス・デルブリュッキイ、ラクトバチルス・ファーメンタム、ラクトバチルス・ヘルベティカス、ラクトバチルス・ケフィア、ラクトバチルス・バラカゼイ、ラクトバチルス・プラントラム、ラクトバチルス・ラムノーサス、ラクトバチルス・サリバリウス、ストレプトコッカス・サーモフィルス、ラクトコッカス・ラクティス、ラクトコッカス・プラントラム、ラクトコッカス・ラフィノラクティス、ロイコノストック・ラクティス、ロイコノストック・メセンテロイデス、エンテロコッカス・フェーカリス、エンテロコッカス・フェシウム等がある。中でも好ましいのは、後記 I g E 抗体産生抑制作用試験において I g E 産生量が 30 ng/ml 以下のもの、特に 10 ng/ml 以下のものである。

【00012】 これらの乳酸菌は、乳酸菌培養の常法に従い任意の条件で培養し、得られた培養物から遠心分離等の集菌手段によって分離されたものをそのまま本発明のために用いることができる。製剤化に際しては賦形剤、安定剤、矯味剤等を適宜混合して凍結乾燥するほか、加

熱乾燥して死菌体にしてもよい。また、乳酸菌の IgE 抗体産生抑制作用を妨げない範囲で、他の任意の薬剤を混合して製剤化することもできる。剤形としては、粉末剤、錠剤、ドリンク剤等が可能である。

【0013】本発明による IgE 抗体産生抑制剤および抗アレルギー剤は、通常、経口投与する。適当な投与量は成人 1 日当たり菌体重量で約 10 ~ 1000 mg である。急性毒性および長期間服用時の副作用は認められない。

【0014】本発明による IgE 抗体産生抑制剤および抗アレルギー剤は、花粉症、アトピー性皮膚炎、気管支喘息、アレルギー性鼻炎、アレルギー性結膜炎、食物アレルギー等のアレルギー疾患の予防と治療に有効である。

【0015】

【実施例】以下、各種乳酸菌の IgE 抗体産生抑制作用を確認した試験の結果を示して本発明を説明する。なお、試験した乳酸菌は、ヒトの糞便や消化管から分離したもの、または酪農関連乳酸菌を、常法により MRS 培地で培養後、滅菌水懸濁と遠心分離を 3 回繰り返すことにより洗浄し、100℃で 30 分間加熱してから凍結乾燥したものである。

【0016】試験法：オボアルブミン 50 μg を吸着させた 1 mg の水酸化アルミニウムアジュバント (100 μl) を 5 週齢の雌 BALB/c マウスに免疫しておき、2 週間後にその脾臓を摘出し、単細胞浮遊液を調製した。これを 10 % ウシ胎児血清を含む RPMI 1640 培地 (1000 μl 結晶ペニシリン G カリウム、100 μg/ml 硫酸ストレptomycin を含む) を用いて、オボアルブミン (20 μ

g) および乳酸菌の加熱死菌体 (0.04 μg) と共に、 6×10^4 / 200 μl / ウェル (96 ウェル平底マイクロプレート、Nunc 社) で培養した。培養は、5 % 炭酸ガス、37℃の条件で行なった。14 日目の培養上清を集め、その中の IgE 抗体量をサンドウィッチ ELISA 法により測定した。すなわち、一次抗体であるモノクローナル抗マウス IgE 抗体 (R35-92, 商品名 Rm-E-01P, PHARMINGEN 社) を炭酸ナトリウム緩衝液に 5 μg/ml となるように溶解し、96 ウェルマイクロプレートに 50 μl 加え、一夜 4℃で吸着させた。次いで、ブロッキングを行なった後、培養上清 50 μl を加え、37℃で 90 分間インキュベートさせた。次いで、二次抗体として 0.5 % Triton X-100 を含むリン酸緩衝化生理食塩水で 200 倍に希釈したビオチン標識抗マウスモノクローナル IgE 抗体 (LO-ME-2) を 50 μl 加え、37℃で 90 分間インキュベートさせた。さらに、0.5 % Triton X-100 を含むリン酸緩衝化生理食塩水で 400 倍に希釈したペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン (Serotec 社) を 50 μl 加え、37℃で 90 分間インキュベートさせた。発色用緩衝液 (クエン酸-リン酸緩衝液) 100 ml に 0-フェニレンジアミン 40 mg、30 % 過酸化水素水 20 μl を加えた基質溶液 100 μl をウェルに添加して酵素反応を行い、492 nm の吸光度を測定した。モノクローナルマウス IgE 標準液より作成した標準曲線から、培養上清中の IgE 抗体量 (ng/ml) を求めた。

【0017】試験結果を表 1 に示す。

【表 1】

乳酸菌	IgE 産生量 (ng/ml)
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (ATCC 4356)	28.12
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (ATCC 4357)	8.09
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (ATCC 11975)	8.36
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (JCM 1028)	21.96
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (JCM 1229)	10.49
<i>Lactobacillus brevis</i> (ATCC 14869)	10.66
<i>Lactobacillus buchneri</i> (ATCC 4005)	13.94
<i>Lactobacillus casei</i> (ATCC 393)	10.13
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> (ATCC 11842)	9.51
<i>Lactobacillus fermentum</i> (ATCC 14931)	9.51
<i>Lactobacillus gasseri</i> (DSM 20234)	65.95
<i>Lactobacillus helveticus</i> (ATCC 15009)	28.56
<i>Lactobacillus johnsonii</i> (JCM 2012)	37.22
<i>Lactobacillus kefir</i> (NRIC 1693)	8.22
<i>Lactobacillus paracasei</i> (NCDO 151)	9.37
<i>Lactobacillus plantarum</i> (ATCC 14917)	17.93
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> (ATCC 7469)	25.11
<i>Lactobacillus salivarius</i> (ATCC 11741)	8.00
<i>Streptococcus thermophilus</i> (ATCC 19258)	3.92
<i>Streptococcus thermophilus</i> (YIT 2001, FERM P-11891)	8.98

5	6
<i>Streptococcus thermophilus</i> (ATCC 14485)	8.68
<i>Streptococcus thermophilus</i> (YIT 2021)	2.00
<i>Streptococcus thermophilus</i> (NCDO 821)	4.53
<i>Streptococcus thermophilus</i> (ATCC 19987)	24.63
<i>Lactococcus lactis</i> (ATCC 19257)	28.78
<i>Lactococcus plantarum</i> (ATCC 43199)	5.76
<i>Lactococcus raffinolactis</i> (ATCC 43920)	5.45
<i>Leuconostoc lactis</i> (ATCC 119256)	4.30
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> (ATCC 19254)	8.06
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 19433)	2.46
<i>Enterococcus faecium</i> (ATCC 19434)	18.11
Control (乳酸菌無添加)	100.81

【 0 0 1 8 】 上記と同様の IgE 抗体産生抑制作用は、オボアルブミン以外のタンパク質抗原、花粉、ダニ抗原等についても確認された。

【 0 0 1 9 】

【 発明の効果 】 本発明による IgE 抗体産生抑制剤および抗アレルギー剤は、ヒトの腸内フローラを構成する乳酸菌や酪農製品製造に古くから利用されて来た乳酸菌か

らなるものであるから、長期間継続的に経口摂取しても安全であるだけでなく、整腸作用、抗腫瘍作用、抗変異作用、免疫賦活作用、血圧低下作用、抗酒癆作用、コレステロール低下作用等、乳酸菌について周知の有用作用が複合的に作用することが期待できるので、これを用いることにより各種アレルギー疾患の予防と治療が著しく容易になる。

フロントページの続き

(51) Int. Cl.	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
(C12N 1/20				
C12R 1:23)				
(C12N 1/20				
C12R 1:24)				
(C12N 1/20				
C12R 1:245)				
(C12N 1/20				
C12R 1:25)				
(C12N 1/20				
C12R 1:46)				
(C12N 1/20				
C12R 1:01)				

(72) 発明者 高見澤 康太郎
東京都港区東新橋 1 - 1 - 1 9 株式会社
ヤクルト本社内